

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap), dengan menggunakan 2 faktor (macam diet dan lama waktu pemberian ransum) dan 5 ulangan.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian tentang “Pengaruh Perbedaan Lama Pemberian Diet Kolesterol Terhadap Perlemakan Hati (*Fatty Liver*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), dilaksanakan pada bulan Januari – April 2010 di Laboraturium Fisiologi Hewan dan Optik Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembedahan *Rattus* dilakukan di Laboratorium FAAL Universitas Brawijaya (UB) Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: kandang *Rattus* berukuran 30 x 50 cm lengkap dengan tempat pakan dan minum, rak tempat kandang, timbangan analitik, sarung tangan (Hand Glove), kertas label, papan seksi, seperangkat alat bedah, Beaker glass 100 ml, gelas ukur 10 ml, kaca benda, kamera, dan buku data.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: hewan coba berupa

Rattus norvegicus berumur 2 bulan, dengan berat 100-150 gr yang berjumlah 50 ekor dengan jenis kelamin jantan, minuman *Rattus* berupa air ledeng, pakan tikus (konsentrat) BR1, bubuk kolesterol, butter cookies, asam kolat, minyak babi, tepung terigu kaya protein, serut kayu sebagai alas kandang, dan kloroform sebagai pembius.

3.4 Variabel Penelitian

Analisis yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu menggunakan tiga variabel penelitian meliputi variabel bebas dan variabel terikat dan variabel kendali.

- Variabel bebas : pemberian paparan dengan dosis ransum yang sama tetapi dengan lama waktu yang berbeda yaitu 2 minggu, 4 minggu, 8 minggu, dan 12 minggu.
- Variabel terikat : jumlah perlemakan di hati yang dilihat dari perubahan Histologi sel hati.
- Variabel kendali : jenis kelamin, umur, dan berat badan tikus.

3.5 Prosedur Kerja

Prosedur kerja dalam penelitian ini meliputi 2 tahap, yaitu tahap persiapan hewan coba dan tahap pemberian perlakuan.

3.5.1 Tahap Persiapan Penelitian

Adapun tahap-tahap yang perlu disiapkan sebelum penelitian, meliputi:

- a. Kandang (bak plastik) berbentuk segi empat, sekam, tempat makan dan minum mencit.
- b. Bahan diet kolesterol atau ransum.
- c. Hewan coba dilakukan proses aklimasi dengan lingkungan baru di laboraturium selama 10 hari pada ruang suhu kamar yang bersuhu 26-27°C.

3.5.2 Tahap Pemberian ransum

Jenis diet hiperkolesterol yang digunakan dalam penelitian ini adalah pellet (konsentrat), bubuk kolesterol, butter cookies, asam kolat, minyak babi, dan tepung terigu kaya protein. Jenis kolesterol diatas diperoleh dari pasar besar dan toko bahan makanan. Selanjutnya dari bahan-bahan diatas dilakukan pencampuran atau ransum dengan dosis tiap jenis kolesterol sebagai berikut:

- a. bubuk kolesterol : 2%
- b. asam kolat (acid colat) : 0,2%
- c. minyak babi : 7,5%
- d. butter : 5%
- e. tepung tinggi protein : 22,5%
- f. konsentrat (pellet) : 45%
- g. air sebanyak : 17,8%

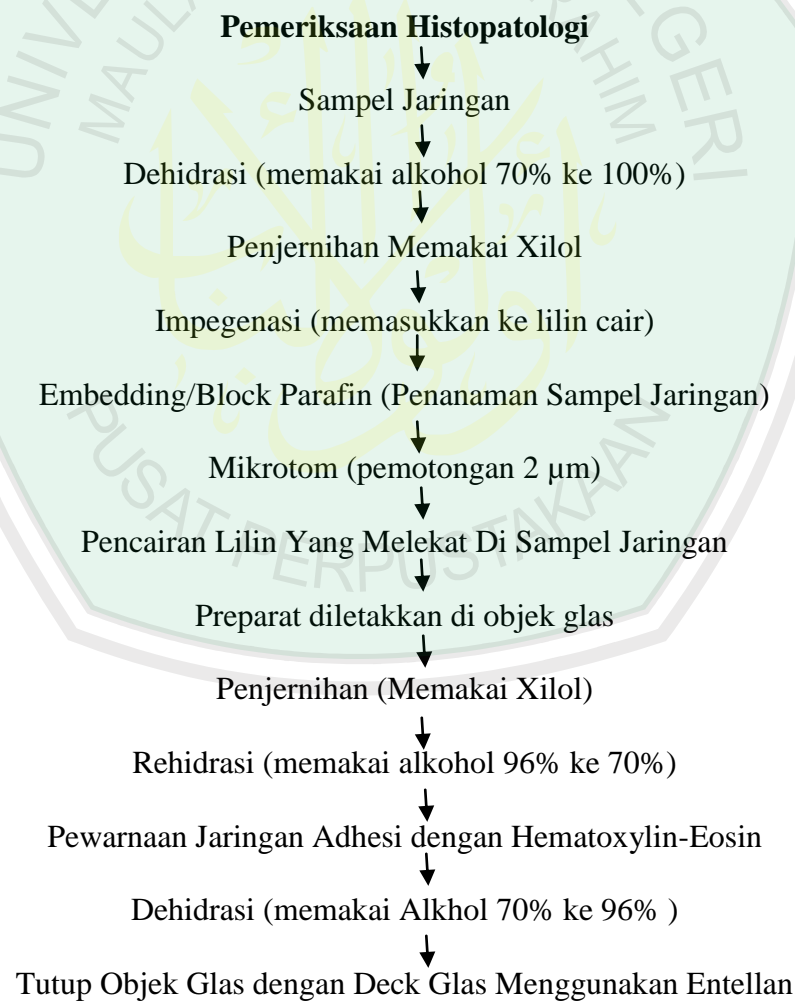
Cara pembuatan pakan diet hiperkolesterol adalah:

- a. timbang semua bahan sesuai dengan dosis
- b. campurkan semua bahan menjadi satu

- c. diberikan ransum yang telah dicampur tadi kepada tiap *Rattus* sebanyak 6 gram

Setiap harinya peneliti melakukan pengecekan terhadap ransum yang diberikan dengan menimbang sisa pakan yang tidak dikonsumsi oleh tikus. Dengan demikian peneliti dapat mengetahui berapa banyak ransum yang dikonsumsi tikus. Pemberian perlakuan ini dilakukan dengan lama waktu yang berbeda yaitu 2 minggu, 4 minggu, 8 minggu, dan 12 minggu.

3.5.3 Tahap Pembuatan Sediaan Histopatologi (Mukawi, 1989)



3.6 Metode Pengumpulan Data

3.6.1 Penghitungan Sel busa

Preparat yang sudah diwarnai dengan HE diperiksa dibawah mikroskop cahaya pembesaran 100x untuk mendapatkan gambar mikroskopis sel hati dan sel lemak yang jelas. Perhitungan dilakukan oleh peneliti sendiri dengan pengulangan 3 kali setiap preparat.

Sel busa dengan pewarnaan HE akan nampak sebagai sel yang besar dengan inti berwarna biru dan tepi yang kosong karena lemak akan luntur/lepas dengan pewarnaan HE sehingga nampak sebagai ruangan yang kosong diantara inti dengan membran sel pada masa yang berbeda (Triliana, 2005).

3.6.2 Analisis Data

Data dari pengukuran kadar kolesterol antara perlakuan 2 minggu, perlakuan 2 minggu, perlakuan 4 minggu, perlakuan 8 minggu, perlakuan 12 minggu yang dianalisis menggunakan ANOVA (Analisis Variansi) dua jalur yang sebelumnya dilakukan uji parameter menggunakan uji Normalitasnya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan Homogenitasnya dengan uji *Levenest Test* , setelah itu di uji BNT dengan taraf signifikan 5%. Jika data tidak memenuhi kriteria uji parameter maka dilakukan uji *Brown-Forsythe* dan *Welch* kemudian di uji lanjut dengan uji *Thamhane*.

Data profil histopatologi ditentukan dengan pengamatan dibawah mikroskop dan diamati adanya pembentukan *foam cell* (sel busa) pada hati. Pengamatan ini dilakukan dengan menggunakan perbesaran 100x. Perhitungan sel

lemak pada hati dilakukan dengan menggunakan perbesaran 25 μ m untuk mendapatkan gambaran histologi hati yang lebih jelas.

